

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**Faculdade de Farmácia**

**Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia**

***Análise comparativa dos indicadores de produção e controle de qualidade  
da síntese do <sup>18</sup>FDG produzido por dois diferentes equipamentos***

**Marcos de Freitas Prado**

**Porto Alegre, novembro de 2015.**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**Faculdade de Farmácia**

**Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia**

***Análise comparativa dos indicadores de produção e controle de qualidade da síntese do <sup>18</sup>FDG produzido por dois diferentes equipamentos***

**Marcos de Freitas Prado**

**Profa. Dr. Aline Rigon Zimmer**

**Orientadora**

**Porto Alegre, novembro de 2015.**

## **APRESENTAÇÃO**

Este trabalho apresenta-se sob forma de artigo original, elaborado segundo as normas da revista “Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals”, apresentadas em anexo.

***Análise comparativa dos indicadores de produção e controle de qualidade da síntese do <sup>18</sup>FDG produzido por dois diferentes equipamentos***

**Marcos de Freitas Prado<sup>1</sup>**, marcospradors@gmail.com

**Aline R. Zimmer<sup>1\*</sup>**, aline.zimmer@ufrgs.br

- 1- Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Avenida Ipiranga, 2752. Porto Alegre/Rio Grande do Sul, CEP 90610-000, Brasil.**

\* Autor correspondente

Profa. Dra. Aline Rigon Zimmer

Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Av. Ipiranga, 2752 – 7º andar, sala 703.2 - Bairro Santana.

CEP: 90610-000 - Porto Alegre/RS - Brasil

Telefone: (51) 3308-5526

E-mail: aline.zimmer@ufrgs.br

## RESUMO

O radiofármaco  $^{18}\text{F}$ FDG é o mais utilizado em PET, sobretudo no contexto oncológico. No entanto, não é um agente específico para a detecção de células cancerosas, sendo também utilizado em outras especialidades médicas como a neurologia e a cardiologia. Ao longo dos anos houve diversas modificações relacionadas à síntese do  $^{18}\text{F}$ FDG, visando otimização do rendimento e tempo de síntese. Inicialmente utilizava-se uma fluoração eletrofílica, onde o rendimento não passava de 8%, em 2 horas. O maior avanço na síntese ocorreu através da descoberta de uma técnica de substituição nucleofílica, utilizando como catalizador o aminopoliéter Kryptofix 222, com rendimento superior a 50% e um tempo inferior a 50 minutos, condições que permanecem atualmente. O objetivo deste estudo foi comparar diferentes equipamentos sintetizadores, o Fastlab<sup>®</sup> e o Synthera<sup>®</sup>, responsáveis pela produção do  $^{18}\text{F}$ FDG no RS, quanto a indicadores de produção, tais como rota de síntese, rendimentos, tempo de síntese, processo produtivo, bem como os resultados do produto final obtidos pelo controle de qualidade, buscando avaliar os pontos críticos inerentes ao processo produtivo que podem impactar no rendimento ou na qualidade do  $^{18}\text{F}$ FDG produzido. Os dois equipamentos são semelhantes em relação à rota de síntese e processo produtivo, apenas com peculiaridades individuais. Ambos demonstraram resultados para controle de qualidade dentro dos parâmetros especificados. Os resultados em termos de rendimento foram 18% superiores para o Fastlab<sup>®</sup>, o qual demonstrou também um tempo de síntese podendo chegar a 4 minutos mais rápido, o que implica em um menor prejuízo de sua concentração radioativa, considerando que o  $^{18}\text{F}$ FDG tem um tempo de meia vida muito curto.

**PALAVRAS-CHAVE:**  $^{18}\text{F}$ FDG, sintetizadores, controle de qualidade.

## ABSTRACT

The radiopharmaceutical  $^{18}\text{F}$ FDG is the most utilized in PET technique, mainly in the oncology field. However, is not a specific compound for cancer cells detection, being used in others medical areas like neurology and cardiology. During many years there were modifications related to  $^{18}\text{F}$ FDG synthesis, aiming optimization in the yields and time of synthesis. Initially, electrophilic fluorination was used with a yield of 8% at maximum, in two hours. The major improvement in the synthesis occurred through the discovery of the nucleophilic substitution technique, using the Kryptofix 222 catalyst with a yield more than 50% in less than 50 minutes, parameters established nowadays. This study aims to compare different synthesizer equipments, such as Fastlab<sup>®</sup> and Synthera<sup>®</sup>, responsible for the  $^{18}\text{F}$ FDG production in RS state. It was compared the production indicators, such as synthesis pathways, yields, synthesis time, productive process, and the results of the developed product obtained by the quality control analisys. The critical inherent points of the productive process that can impact on yield or in the quality of  $^{18}\text{F}$ FDG manufactured were also evaluated. The two equipment are similar according to the synthesis route and productive process, just differentiating in individual characteristics. Both demonstrated results for quality control analisys within the specified parameters. The results of yield were 18% higher for Fastlab<sup>®</sup> equipment, with a synthesis time 4 minutes faster, meaning a minor impact on its radioactive concentration, considering that  $^{18}\text{F}$ FDG has a short half-life.

**KEYWORDS:**  $^{18}\text{F}$ FDG, Synthesizers, Quality control.

## INTRODUÇÃO

O 2-desoxi-2-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-D-glicose ( $^{18}\text{FDG}$ ) é uma substância análoga à glicose em que o grupamento hidroxila do carbono 2 é substituído por um átomo de flúor radioativo. O  $^{18}\text{FDG}$  é o radiofármaco mais usado em PET (tomografia por emissão de pósitron) e a sua captação celular reflete o metabolismo da glicose que normalmente está aumentado em tumores malignos devido à rápida divisão e crescimento celular. Além disso, devido ao efeito de Warburg as células cancerosas produzem energia através de uma alta taxa de glicólise seguida pela fermentação do ácido láctico e, portanto, um maior número de moléculas de glicose são consumidas para produzir energia [1]. No entanto, o  $^{18}\text{FDG}$  não é um agente específico para a detecção de células cancerosas, sendo também muito utilizado em especialidades tais como neurologia e cardiologia [2]. Tal como a glicose, o  $^{18}\text{FDG}$  é transportado para dentro das células através do transportador de glicose GluT1. Uma vez dentro da célula, o  $^{18}\text{FDG}$  é convertido em  $^{18}\text{FDG}$ -6-fosfato pela enzima hexoquinase (HK). No entanto, esta molécula não é metabolizada em frutose-6-fosfato, pela fosfoglicose isomerase, devido à presença do átomo de flúor na posição 2, uma vez que a presença do grupo hidroxila nessa posição é essencial para o processo (figura 1). Como consequência, o  $^{18}\text{FDG}$ -6-fosfato é retido nas células com níveis metabólicos elevados. Em tecidos metabolicamente ativos como o coração e cérebro, ou em situações patológicas como a inflamação e tumores, a captação celular do  $^{18}\text{FDG}$  apresenta-se aumentada. Por outro lado, o metabolismo da glicose e a captação de  $^{18}\text{FDG}$  encontram-se diminuídos em casos de isquemia e enfarte do miocárdio e de doenças neurodegenerativas.

A primeira síntese do 2-desoxi-2-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-D-glicose ( $^{18}\text{FDG}$ ) para estudo em humanos teve lugar em 1976, em resultado de uma colaboração entre cientistas do National Institutes of Health, da Universidade da Pensilvânia, e Brookhaven National Laboratory, que tinha começado três anos antes. Esta síntese foi realizada através de uma fluoração eletrofílica, conforme a Figura 2, onde a síntese envolveu a adição de flúor radioativo na forma gasosa ( $^{18}\text{F}[\text{F}_2]$ ) à dupla ligação do 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal [3], que foi o precursor utilizado. Após tratamento do 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal com o  $^{18}\text{F}-\text{F}_2$

produzia-se uma mistura na proporção 3:1 de derivados de difluoro-glicose e difluoro-manose (Figura 3). O derivado de difluoro-glicose foi separado e hidrolisado com ácido clorídrico para formar 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-desoxiglicose (Figura 3), obtendo um rendimento de apenas 8% e um tempo de síntese de 2 horas [4].

Com o decorrer dos anos foram realizadas algumas melhorias para fluoração eletrofílica descrita acima. Uma das modificações mais úteis foi a utilização de reagentes radiofluorados eletrofílicos menos reativos, em substituição ao <sup>18</sup>F-F<sub>2</sub> representado na figura 3, tais como <sup>18</sup>F-hipofluoreto de acetila (<sup>18</sup>F-CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>F), que permitiu obter o <sup>18</sup>FDG em rendimentos superiores e melhorar a estereosseletividade [5]. No entanto, o principal limitante desta radiofluoração eletrofílica era que apenas 50% dos átomos de <sup>18</sup>F eram incorporados nos precursores não radioativos e a atividade específica do <sup>18</sup>FDG, ou de outros radiofármacos preparados utilizando flúor eletrofílico, era afetada pela necessidade de usar flúor não radioativo como arrastador.

O maior avanço na síntese do <sup>18</sup>FDG foi relatado em 1986 quando foi desenvolvida uma técnica de substituição nucleofílica, utilizando como catalizador o aminopoliéter Kryptofix 222 (C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>), que juntamente com acetonitrila, água e carbonato de potássio compõem a solução de Cryptand, apresentando um rendimento de síntese superior a 50% e um tempo de síntese inferior a 50 minutos [6].

A Figura 4 representa a síntese de <sup>18</sup>FDG que utiliza a substituição nucleofílica, onde o íon <sup>18</sup>F é o nucleófilo. O precursor utilizado é o triflato de manose no qual as posições dos carbonos 1,3,4,6 estão protegidas por grupamentos acetila, e o triflato é o grupo de saída no carbono 2. Utilizando o Kryptofix 222 como catalizador e acetonitrila como solvente o íon <sup>18</sup>F aproximou-se do triflato de manose na posição do carbono 2, enquanto o grupamento triflato deixa a manose para formar o <sup>18</sup>F-FDG [7]. O passo final da síntese é a remoção dos grupos protetores de acetila nos carbonos 1,3,4,6. Isto pode ser realizado utilizando-se ácido clorídrico (hidrólise ácida) ou hidróxido de sódio (hidrólise básica), porém existem estudos que comprovam que a hidrólise básica apresenta melhores rendimentos em um menor tempo de hidrólise, conforme demonstrado pela tabela 1 [8]. A etapa de purificação pode ser



efetuada com uma série de colunas de troca iônica, fase reversa (C-18) e coluna de alumina [7].

Atualmente, vários são os equipamentos utilizados na síntese do  $^{18}\text{F}$ FDG, dentre eles podemos destacar os equipamentos Fastlab<sup>®</sup>, produzido pela empresa General Electric (GE) Healthcare; o Synthera<sup>®</sup>, da IBA Molecular; e o Explora FDG<sup>®</sup>, da Siemens; que são os fabricantes dos equipamentos disponíveis no Brasil. De acordo com a Figura 5, que demonstra a distribuição destes equipamentos sintetizadores no Brasil, podemos verificar claramente a prevalência dos equipamentos fabricados pela GE Healthcare, que representam aproximadamente 64% do total, seguida pelos equipamentos da IBA Molecular, com cerca de 21% do total de sintetizadores disponíveis no Brasil.

Atualmente, no estado do Rio Grande do Sul, existem dois modelos destes equipamentos em operação, o Synthera<sup>®</sup> (IBA Molecular) e o Fastlab<sup>®</sup> (GE Healthcare). O objetivo deste estudo é comparar, através de uma análise dos indicadores de produção e controle de qualidade do  $^{18}\text{F}$ FDG, as diferenças entre as sínteses realizadas por ambos equipamentos quanto aos parâmetros de rota de síntese, rendimento do processo, tempo de produção, e características de pureza do produto obtido. A partir da análise dos dados, pretende-se avaliar os pontos críticos provenientes do processo produtivo, tentando estabelecer o melhor equipamento, as condições ideais de operação, onde se consiga obter os melhores rendimentos, no menor tempo, e sem comprometer a qualidade do produto final.

## **MATERIAIS E METODOS**

### **Amostras analisadas**

Foi realizado um estudo comparativo entre os dois equipamentos utilizados para sintetizar o  $^{18}\text{F}$ FDG em escala industrial no estado do Rio Grande do Sul, o Synthera<sup>®</sup> (IBA Molecular) e o Fastlab<sup>®</sup> (GE), onde foram avaliados um total de 505 lotes produzidos no equipamento Synthera<sup>®</sup>, e 78 lotes produzidos no equipamento Fastlab<sup>®</sup>, no período de abril de 2014 a abril de 2015.

Os parâmetros analisados foram a rota de síntese realizada nestes diferentes equipamentos, o rendimento do produto obtido, o tempo de síntese e os resultados obtidos no controle de qualidade, tais como pureza e identificação radioativa, pureza e identificação radionuclídica, pureza química, pH, teste de esterilidade e teste para endotoxinas. A análise do controle de qualidade foi realizado com base nos parâmetros preconizados por dois compêndios oficiais, a Farmacopeia Americana (USP) e a Farmacopeia Europeia.

### **Descrição dos Equipamentos avaliados**

O equipamento Synthera<sup>®</sup> (figura 6), fabricado pela IBA Molecular, é um sintetizador multiuso totalmente automatizado, composto por um sistema auto-ejetável para o Kit IFP<sup>™</sup> (Integrated Fluidic Processor), sensores de radiação, temperatura e pressão, e sistema de aquecimento até 175 °C, com refrigeração a ar. Segundo informações do fabricante esse equipamento tem uma capacidade de alcançar rendimentos em torno de 60%, mantendo uma pureza radioquímica acima de 95%, o que o torna um equipamento seguro, eficaz, com consistências de qualidade, e compatível com as Boas Práticas de Fabricação (BPF) [9].

Ele é composto por um Kit IFP<sup>™</sup> (figura 7), em um sistema descartável, com armação de plástico, onde através de montagem manual é constituído de 4 frascos de reagentes, com uma trava de proteção para as agulhas, um frasco reator, 2 suportes de colunas, sendo um para a coluna QMA (Quaternary ammonium anion exchange) Sep-Pak e outro para as colunas de purificação acopladas. A figura 7 ilustra o Kit IFP<sup>™</sup> devidamente montado com suas respectivas colunas e reagentes. O conjunto de reagentes, com seus respectivos certificados de análises, consumíveis auxiliares, tais como cartucho QMA, filtros, colunas de purificação, seringas, agulhas e o próprio Kit IFP<sup>™</sup> [9], são todos fornecidos separadamente pela ABX (Advanced Biochemical Compounds).

O equipamento Fastlab<sup>®</sup> (figura 8), fabricado pela GE Healthcare, é um sintetizador que possui uma caixa de síntese automatizada e um sistema baseado no uso de cassetes integrados, de uso único, que fornece todo

percurso fluido para a síntese de  $^{18}\text{F}$ FDG, carregados com todos os reagentes, colunas e filtros necessários para o processo. Nas conexões para o fornecimento de gás (vácuo e nitrogênio) entre o cassete e o equipamento incluem o uso de filtros estéreis de 0,22 micrômetros fornecidos com o pacote do cassete. Os filtros são instalados entre o ponto de conexão do equipamento e a linha de fornecimento de gás do cassete. O equipamento é todo automatizado, com uma detalhada coleta de dados, reduzindo a necessidade de documentação, além de conter sensores embutidos para monitoramento dos processos de operação e síntese.

O cassete é substituído a cada corrida garantindo um funcionamento limpo e reproduzível durante toda produção de  $^{18}\text{F}$ FDG. O cassete inclui um frasco reator, duas seringas de 6 ml, uma seringa de 1 ml, ligações para fluidos de entrada e de saída, os frascos de reagentes e colunas de fase sólida, conforme ilustrado na figura 9. O pacote do cassete pode ser fornecido exclusivamente pela GE Healthcare, que inclui o cassete e componentes adicionais de uso único. Segundo informações do fabricante, trata-se de um equipamento de alta reprodutibilidade e excelente desempenho, alcançando rendimentos não corrigidos de 74%, sendo 85% de rendimento corrigido, independentes da atividade inicial de  $^{18}\text{F}$ FDG, sendo testado até 19Ci de atividade inicial, mantendo uma pureza radioquímica acima de 95% e sendo compatível com as Boas Práticas de Fabricação [10].

### **Descrição do Processo produtivo $^{18}\text{F}$ FDG**

Em ambos equipamentos, o Fluoreto- $^{18}\text{F}$  é produzido através da reação do  $^{18}\text{O}(p, n)^{18}\text{F}$  com água enriquecida (REM) no ciclotron, onde posteriormente é transferido para o sintetizador através de linhas de transferências.

### **Equipamento Synthera<sup>®</sup> (IBA Molecular)**

Durante a rotina de trabalho, no equipamento Synthera<sup>®</sup>, primeiramente é realizada a ativação das colunas de purificação, coluna catiônica SCX, coluna de óxido de alumínio Sep-Pak plus B, coluna C18 Sep-Pak, e também da coluna de resina aniônica QMA Sep-Pak. Primeiramente, a coluna QMA Sep-Pak é ativada com 5 mL de bicarbonato de sódio 8,4%, e a coluna C18 Sep-Pak é ativada com 10 mL de etanol. Após, é realizado duas passagens de ar

através das colunas, a fim de remover o excesso de Etanol e Bicarbonato de sódio 8,4%, respectivamente. A seguir, todas essas colunas são ativadas com 25 mL de água pra injetáveis, sendo 5 mL na coluna catiônica SCX, 5 mL na coluna de óxido de alumínio Sep-Pak plus B, 5 mL na coluna QMA Sep-Pak e mais 10 mL na coluna C18 Sep-Pak. Em seguida, essas colunas são submetidas a passagem de ar, para remover o excesso de água.

O kit IFP (figura 7) é submetido a uma conferência antes de ser montado, onde se verifica se todas as linhas do kit estão devidamente conectadas e posicionadas corretamente. Assim, verifica-se a existência de conexões e/ou linhas danificadas, a integridade do frasco reator, se o capilar verde no interior do frasco reator toca a base do frasco, verifica-se a integridade e posiciona-se corretamente as válvulas vermelhas e brancas atrás do cartucho, retira-se a trava das agulhas e verifica-se a integridade das mesmas, reposiciona-se a trava no kit IFP, e no caso de algum desses itens não estar em conformidade o kit IFP é descartado e realiza-se a conferência em um novo kit. Posteriormente então, é feita a montagem do kit IFP, onde são inseridas as colunas de purificação, a coluna QMA e todos os reagentes envolvidos no processo de síntese, tais como o Cryptand (solução aquosa composta por Kryptofix 222, acetonitrila, carbonato de potássio), Triflato de manose, Hidróxido de Sódio e Água pra injetáveis (conforme figura 7). Estes reagentes também passam por uma conferência quanto a sua aparência e volume, conforme tabela 2, onde reagentes que não estiverem em condições adequadas não devem ser utilizados na produção.

Antes do início da síntese no Synthra<sup>®</sup>, é realizado um *self-test*, que é um controle de processo realizado para assegurar que o equipamento está em condições ideais para a produção, através do teste de diversos parâmetros de pressão e temperatura. A impossibilidade de o equipamento atingir os valores preconizados em um ou outro passo (*step*) pode provocar a estagnação do teste, ou seja, o sistema não autoriza a passagem para o passo seguinte. Nestes casos, é necessário que o operador cancele o teste corrente e dê início a um novo teste. Se ainda assim não for possível atingir os parâmetros previstos é necessário realizar a troca do kit IFP. O *self-test* dura em torno de 6 minutos e necessita de acompanhamento, buscando observar os parâmetros informados na tela do software, pois são considerados críticos para a obtenção

de um bom rendimento de síntese. Após a conclusão do *self-test*, o sistema emite um sinal sonoro característico, sinalizando que o sistema está pronto para iniciar a síntese. Nesse momento se remove a trava de proteção das agulhas do kit IFP, posiciona-se o acrílico da BBS-1-Synthera (local onde o módulo de síntese fica armazenado) adequadamente, infla-se os *gaskets* (sistema de vedação mecânica sob compressão, usado para evitar vazamento de material radioativo) e fecha-se a porta da *Hot cell*, capela de fluxo laminar blindada que garante um microambiente grau B, conforme preconizado pela RDC nº17 de abril de 2010 [11].

Depois de finalizada esta preparação do laboratório de produção pode-se dar início a síntese do  $^{18}\text{F}$ FDG, onde, primeiramente, o operador, deve autorizar a transferência do F-18 irradiado no ciclotron através do botão “AUTORIZAÇÃO TRANSFERÊNCIA” localizado no painel ao lado da BBS1-Synthera (conforme figura 10). Esta transferência dura em torno de 2 a 4 minutos. Assim que todo F-18 é transferido do ciclotron para o *V-vial* (frasco que comporta a água enriquecida com o F-18 recebida do ciclotron, conforme figura 11) deve ser feito o registro da atividade recebida através de um curiômetro, equipamento utilizado para medir a atividade radioativa, dar início a síntese, registrando a atividade e a hora exata. Monitora-se o processo de transferência, visualizando a diminuição da atividade sinalizada pelo curiômetro e o fluxo de F-18 do *V-vial* para a coluna QMA. A transferência também pode ser evidenciada pelo aumento da atividade no Synthera<sup>®</sup> através da linha verde plotada no gráfico da figura 12, que promove o acompanhamento em tempo real do andamento da síntese.

A síntese do  $^{18}\text{F}$ FDG pelo equipamento Synthera<sup>®</sup> é realizada, primeiramente, através da extração do íon fluoreto- $^{18}\text{F}^-$  da mistura aquosa proveniente do ciclotron. A fim de remover as impurezas da mistura, realiza-se a passagem desta água através de um cartucho contendo 30 mg de resina aniônica QMA SepPak (Waters Corp.). O íon fluoreto- $^{18}\text{F}^-$  fica retido no cartucho enquanto todas as impurezas catiônicas e solúveis em água são descartadas junto com a água enriquecida recuperada. O íon  $^{18}\text{F}^-$  é então eluído com o reagente Cryptand, uma solução aquosa de acetonitrila contendo carbonato de potássio e Kryptofix 222 (aminopoliéter). Sob fluxo de nitrogênio, a mistura de água/acetonitrila é evaporada a uma temperatura de 95 °C,

deixando como resíduo o complexo de fluoreto- $^{18}\text{F}^-$  com Kryptofix 222. O próximo passo ocorre a uma temperatura de  $85\text{ }^\circ\text{C}$ , onde acontece a reação do complexo com o triflato de manose, através da saída do grupo trifluorometanosulfonil do carbono 2 do triflato de manose e a substituição do mesmo pelo íon  $^{18}\text{F}^-$ , gerando o produto intermediário. Esta substituição nucleofílica ocorre via mecanismo  $\text{S}_{\text{N}}2$ . Após, ocorre a hidrólise básica com solução de hidróxido de sódio e aquecimento a  $50^\circ\text{C}$ , com o auxílio do *Heater* (suporte de aquecimento que comporta o frasco reator, como ilustrado em vermelho abaixo do frasco reator na figura 13), para a remoção de todos os grupos protetores acetil do produto intermediário, produzindo o  $^{18}\text{F}$ FDG. A seguir, o produto passa pelas colunas de purificação já ativadas e devidamente instaladas, onde a primeira contém uma resina de troca catiônica (para remover Kryptofix 222 e neutralizar o hidróxido de sódio), e está ligada a coluna de óxido de alumínio Sep-Pak Plus B, para absorver fluoreto- $^{18}\text{F}$  que não reagiu, e por fim, uma coluna C18 Sep-Pak C18, para reter espécies não polares, como traços do produto intermediário não hidrolisado. A síntese dura em torno de 26 minutos depois de realizada toda a transferência do ciclotron. Após passar pelas colunas de purificação o  $^{18}\text{F}$ FDG é transferido para o equipamento de envase, onde é esterilizado através de um filtro de  $0,22\text{ }\mu\text{m}$  no momento do envase.

O acompanhamento dos parâmetros de pressão, radiação e temperatura do processo de síntese, bem como todo o processo em tempo real, pode ser feito pelo software do equipamento como demonstram as figuras 12 e 13, respectivamente.

### **Equipamento Fastlab<sup>®</sup> (GE Healthcare)**

O sintetizador Fastlab<sup>®</sup>, fabricado pela Ge Healthcare, executa as etapas de preparação para o cassete de uso único instalado, antes da entrega do fluoreto- $^{18}\text{F}$  produzido pelo ciclotron. Estas etapas incluem retirar da embalagem o novo cassete, verificar se o mesmo não possui obstruções nas linhas e se as válvulas estão bem apertadas e alinhadas, conferir se todo o material necessário está disponível (conforme figura 9), se todos os reagentes e colunas estão presentes no local correto, conforme as figuras 14 e 15, checar

se os êmbolos das seringas estão corretamente ajustados e se o cassete está reto. O cassete de ser ajustado usando-se as duas maçanetas laterais localizadas nos lados direito e esquerdo do painel frontal do equipamento. Quando o cassete é acoplado ao sintetizador, seu código de barras é lido e reconhecido e observar-se se aparece a imagem de um código de barras na tela do computador. No caso da leitura do código de barras falhar, ele deve ser inserido manualmente. Conecta-se o frasco de recuperação da água enriquecida ao cassete, coloca-se o frasco reator dentro do aquecedor, conecta-se a linha de saída de produto acabado à linha correspondente ao equipamento de envase, e realiza-se o pré-teste do cassete. Após o pré-teste, acopla-se a garrafa de água no local indicado, sendo necessário a adição de 0,3% de etanol, previamente esterilizado, à bolsa de água para injetáveis, antes de acoplá-la ao cassete, a fim de promover a estabilidade do  $^{18}\text{FDG}$  produzido, evitando a degradação do mesmo. No caso do equipamento Synthera<sup>®</sup> não existe necessidade de adicionar o etanol à água para injetáveis, já que no processo de ativação das colunas existe um residual de etanol, e este auxilia na estabilidade no  $^{18}\text{FDG}$ . Posteriormente, realiza-se um auto-teste de todos os sistemas de *hardware* sobre a operação inicial, um teste para vazamentos do cassete instalado via fluido, pressiona-se os frascos de reagentes selados e recipiente de água sobre as pontas que perfuram os septos, e pressuriza-se os frascos de reagente com gás nitrogênio. É realizado então, o condicionamento, pelo próprio equipamento, das colunas TC18 com acetonitrila e da coluna de alumina com água purificada. Uma vez que as etapas de preparação são concluídas para o sistema do sintetizador, o operador é informado na tela através do computador, e então coloca-se a porta de acrílico da *Hot cell*, e infla-se os *gaskets*. Depois de finalizada esta preparação do laboratório de produção, pode-se dar início a síntese do  $^{18}\text{FDG}$ , onde, ao contrário do processo visto pelo Synthera<sup>®</sup>, o operador não precisa autorizar a transferência do flúor-18 irradiado no ciclotron, isso ocorre automaticamente, com apenas alguns interlocks como segurança.

A síntese do  $^{18}\text{FDG}$ , realizada pelo equipamento Fastlab<sup>®</sup>, primeiramente, é realizada através da extração do íon fluoreto-18F da mistura aquosa proveniente do ciclotron. A fim de remover as impurezas da mistura, realiza-se a passagem desta água através de um cartucho de resina aniônica

QMA, realizando a medição da radioatividade total através do Geiger-Müller, equipamento acoplado ao Fastlab<sup>®</sup> responsável por medir a radiação. O íon fluoreto-18F fica retido no cartucho enquanto todas as impurezas catiônicas e solúveis em água são descartadas junto com a água enriquecida recuperada. O íon  $^{18}\text{F}^-$  é então eluído por uma solução aquosa de acetonitrila contendo carbonato de potássio e Kryptofix 222 (aminopoliéter). Sob fluxo de nitrogênio, a mistura de água/acetonitrila é evaporada a uma temperatura em torno de 125°C, por um tempo aproximado de 9 minutos, deixando como resíduo o complexo de fluoreto-18F com Kryptofix 222. O próximo passo ocorre a uma temperatura de 125 °C, onde acontece a reação do complexo com o triflato de manose, através da saída do grupo trifluorometanosulfonil do carbono 2 do triflato de manose e a substituição do mesmo pelo íon  $^{18}\text{F}^-$ , gerando o produto intermediário. Esta substituição nucleofílica ocorre em aproximadamente 2 minutos, via mecanismo  $\text{S}_{\text{N}}2$ . Nesta etapa é realizada nova medição da radioatividade total pelo Geiger-Muller. Antes de ocorrer a hidrólise básica, este produto intermediário passa pela coluna TC18 sendo eluído por água para injetáveis, realizando uma purificação preliminar, retendo espécies não polares e demais compostos que não reagiram, como o fluoreto-18F livre e resíduos de aminopoliéter, sendo lavados através da coluna e descartados no frasco de resíduo. O produto intermediário retido na coluna é hidrolisado através da adição de uma solução de hidróxido de sódio 2N a temperatura ambiente, promovendo assim, a hidrólise básica, que dura em torno de 2 minutos. Este passo remove todos os grupos protetores acetil do produto intermediário, produzindo o  $^{18}\text{FDG}$ . A solução alcalina de  $^{18}\text{FDG}$  é efluída e misturada com água, para que seja realizado o ajuste de pH através de uma solução de ácido fosfórico, para só então passar pelas demais colunas de purificação, a coluna OASIS HLB<sup>®</sup> e a coluna Alumina, representadas na figura 15 pelas cores cinza e verde, respectivamente. A primeira coluna conciste em uma coluna de fase reversa que remove traços do produto intermediário não hidrolisado e impurezas não-polares, e a segunda serve para absorver o fluoreto-18F não reagente. Após passar pelas colunas de purificação, o  $^{18}\text{FDG}$  é transferido para o equipamento de envase, onde é esterilizado através de um filtro de 0,22  $\mu\text{m}$  no momento do envase.



A figura 16 ilustra a possibilidade de uma visualização em tempo real de cada etapa da síntese através do software do equipamento, assim como visto também pelo equipamento Synthera<sup>®</sup>, através da figura 13.

### **Parâmetros do Controle de Qualidade avaliados**

Para o controle de qualidade dos lotes de <sup>18</sup>F<sub>2</sub> produzidos nos equipamentos Synthera<sup>®</sup> e Fastlab<sup>®</sup> foi utilizado como referência as monografias presentes na Farmacopeia Europeia (FE) [14] e Farmacopeia Americana (USP 34) [15]. Foram adotadas estas farmacopeias, pois segundo a RDC nº 37 de 2009 da ANVISA [12], na ausência de monografia oficial de formas farmacêuticas inscritas na Farmacopéia Brasileira, poderá ser adotada monografia oficial de outros compêndios internacionais. Portanto, perante a legislação vigente, fica em aberto a escolha pelo compêndio oficial internacional mais adequado a realidade de cada empresa. A tabela 3 [13].

apresenta a descrição de todos os ensaios preconizados em cada monografia das Farmacopeias FE e USP, bem como seu limites de especificação. Esta tabela nos permite observar uma similaridade entre estas monografias. A FE e a USP diferem em alguns ensaios. A USP não preconiza ensaio de aspecto da amostra, enquanto na FE é exigido. Para o teste de pureza química, que embora seja diferente, trata-se de um ensaio limite semi-quantitativo, onde a USP estabelece um menor limite de aceitação quando comparado com a FE.

No ensaio de pureza radionuclídica, a FE solicita um teste complementar, além do teste de tempo de meia vida, que consiste em determinar a quantidade de <sup>18</sup>F e impurezas radionuclídicas com meia vida maior que 2 horas, ou seja, avaliar se existe alguma impureza radionuclídica após o decaimento do <sup>18</sup>F. Já na USP a pureza radionuclídica é avaliada apenas contemplando o tempo de meia vida característico para o <sup>18</sup>F que é de 110 minutos.

O teste de identidade radioquímica pela USP é realizado pela técnica de CCD (Cromatografia em Camada Delgada), comparando-se o valor de R<sub>f</sub> obtido para a amostra com o valor de R<sub>f</sub> obtido com a solução de referência, enquanto que pela FE se avalia pela técnica de CLAE (Cromatografia Líquida

de Alta Eficiência), comparando-se o tempo de retenção obtido pela solução amostra com o tempo de retenção obtido com a solução padrão.

O teste de pureza radioquímica, tanto pela USP quanto pela FE, é realizado pela técnica de CCD, onde a distribuição da radioatividade é determinada escaneando-se o cromatograma com um detector de radiação colimado, o *TLC scanner*, no entanto, o limite de aceitação preconizado pela USP é maior.

O teste de pH utiliza a mesma técnica em ambas Farmacopeias, no entanto, o limite de aceitação pela USP é menor que o preconizado pela FE. O teste de solventes residuais pela FE remete aos métodos gerais para solventes residuais, sem especificar quais solventes pesquisar, já o método preconizado na USP é bem específico, e descreve tanto a técnica, quanto os solventes provenientes da síntese aos quais devem ser pesquisados. A tabela 3 dispõe de mais detalhes referentes aos limites de especificação aceitáveis.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo foi realizada uma comparação prática entre os sintetizadores do radiofármaco  $^{18}\text{F}$ FDG em operação no estado do Rio Grande do Sul: Fastlab<sup>®</sup> (GE) e Synthera<sup>®</sup> (IBA Molecular), avaliando parâmetros como rota e processo de síntese envolvido em cada equipamento, tempo de síntese, rendimento do produto obtido e resultados do controle de qualidade dos lotes referentes a 1 ano de produção.

Os resultados de rendimentos obtidos pelo Fastlab<sup>®</sup> e Synthera<sup>®</sup> encontram-se na figura 17 e 18, respectivamente. A tabela 4 demonstra a avaliação dos valores de rendimentos obtidos entre os dois sintetizadores em estudo, onde podemos observar que os resultados de rendimentos apresentados pelo Fastlab<sup>®</sup> (86,7%) foram significativamente superiores aos demonstrados pelo Synthera<sup>®</sup> (68,7%). Também se observa uma reprodutibilidade melhor nos lotes produzidos pelo Fastlab<sup>®</sup>, onde se desconsiderarmos os 9 primeiros lotes produzidos, o DPR% cai de 10,1% para 4,08%, se mantendo constante a partir do décimo lote produzido, e apresentando rendimentos superiores a 80% em 88,5% dos lotes avaliados (69

lotes dos 78 avaliados), enquanto que no Synthera<sup>®</sup> apenas 5% (25 lotes) dos 505 lotes produzidos apresentaram rendimentos acima de 80%. O Synthera<sup>®</sup> apresentou ainda, 15 lotes (3%) dos 505 produzidos com rendimentos de síntese inferiores a 50%.

Em relação ao tempo de síntese, ele se manteve constante em ambos equipamentos. No Fastlab<sup>®</sup> o tempo de síntese variou de 22 a 24 minutos para todos os lotes produzidos, com uma média de 22,5 minutos. Já no Synthera<sup>®</sup>, o tempo de síntese para todos os lotes produzidos variou de 25 a 27 minutos, com uma média de 26 minutos. Com isso, pode-se averiguar que o Fastlab<sup>®</sup> pode concluir a síntese até 4 minutos mais rápido que o Synthera<sup>®</sup>. Este dado pode ser considerado relevante a medida que trabalha-se com um radiofármaco de tempo de meia vida muito curto, em torno de 110 minutos, ou seja, ele demora 110 minutos para decair até metade da sua atividade de radiação, sendo assim, 4 minutos pode impactar em um prejuízo considerável da concentração radioativa final de <sup>18</sup>FDG.

Quanto a rota de síntese, nos dois equipamentos é realizada conforme figura 4, via substituição nucleofílica SN2 no carbono 2 do triflato de manose, com as posições 1,3,4,6 protegidas por grupamentos acetila, substituindo o grupamento triflato por um átomo de flúor radioativo utilizando o Kryptopfix como catalisador, produzindo o produto intermediário. Esses grupamentos protetores de acetila são removidos através de uma hidrólise básica para obter o <sup>18</sup>FDG, que ainda passa por colunas de purificação antes de ser transferido ao equipamento de envase. No entanto, existem diversos parâmetros no processo de síntese de cada equipamento que diferem e podem implicar diretamente nesta diferença de rendimento obtida, como pode ser visto pela tabela 5.

De acordo com a tabela 5, existem algumas diferenças no processo de síntese entre os dois equipamentos em estudo, tais como a autorização da transferência da água enriquecida irradiada no cíclotron para o sintetizador, presente no Synthera<sup>®</sup> e ausente no Fastlab<sup>®</sup>, que conta apenas com alguns interlocks de segurança, tais como sensores na porta que impedem que seja realizada a transferência quando a *Hot cell* estiver aberta, evitando que ocorra a transferência de água enriquecida com o flúor radioativo em condições inadequadas, podendo haver uma exposição exacerbada por parte do

operador. Parâmetros de temperatura ao longo do processo de síntese também são diferentes. O Fastlab<sup>®</sup> possui um filtro de gases, para vácuo e nitrogênio, entre o cassete e o equipamento, já o Synthera<sup>®</sup> não possui esse tipo de filtro. O Fastlab<sup>®</sup> realiza uma purificação preliminar através da coluna C18, antes da hidrólise, a fim de reter espécies não polares e demais compostos que não reagiram, como o fluoreto-18F livre e resíduos de aminopoliéter, sendo lavados através da coluna e descartados no frasco de resíduo, enquanto que no Synthera<sup>®</sup>, a coluna C18 é utilizada somente no final do processo, contemplando a última etapa antes de o produto ser transferido para o equipamento de envase.

Outro parâmetro que difere entre os equipamentos é a adição de etanol, que é um importante componente para garantir a estabilidade do <sup>18</sup>FDG, evitando a sua degradação. No Synthera<sup>®</sup> o etanol que participa do processo é proveniente do residual obtido pela ativação da coluna QMA, enquanto que no Fastlab<sup>®</sup>, como não se faz necessária a prévia ativação de colunas, e as mesmas passam apenas por um condicionamento realizado automaticamente pelo próprio equipamento com acetonitrila e água, o etanol precisa ser adicionado à bolsa de água para injetáveis que vai acoplada ao cassete do equipamento. É adicionado uma quantidade suficiente (0,3% de etanol) para garantir a estabilidade do <sup>18</sup>FDG sem comprometer os níveis de solventes residuais para etanol avaliado pelo controle de qualidade. Outro fator, que talvez seja o mais relevante para atribuir a alta variação de rendimentos obtida entre os dois sintetizadores, é o método de detecção da radiação utilizado: Curiômetro e Geiger-Muller, para o Synthera<sup>®</sup> e o Fastlab<sup>®</sup>, respectivamente. O Curiômetro é composto de uma câmara de ionização onde, operando em uma baixa tensão, todos os pares de íons formados são coletados, sendo muito mais preciso e específico que o Geiger-Muller, que opera em alta tensão e não permite discriminar tipos de radiação, sendo pouco específico e preciso em relação ao Curiômetro, podendo apresentar um erro de até 20%, enquanto que no curiômetro os erros podem variar de 5 a 10%. Possivelmente, essa diferença de precisão entre os dois equipamentos responsáveis por monitorar a radiação possa justificar a diferença em torno de 20% apresentada entre os rendimentos obtidos por cada equipamento. A opção por utilizar o Geiger-

Muller como equipamento de medição da radiação deve-se ao seu baixo custo em relação a câmara de ionização (Curiômetro).

Os resultados referentes ao controle de qualidade podem ser vistos na tabela 6, tendo seus limites de aceitação devidamente especificados na tabela 3. Pode-se perceber que em ambos equipamentos obteve-se resultados satisfatórios no que diz respeito ao controle de qualidade do  $^{18}\text{FDG}$ . Apenas 2 lotes dos 505 produzidos pelo sintetizador Synthera<sup>®</sup> foram reprovados no controle de qualidade, um lote por apresentar uma alta concentração de acetonitrila (concentração de 1,1585%, sendo o limite máximo superior de 0,04%), e outro por apresentar uma pureza radioquímica (94,28%) abaixo do limite de especificação preconizado pela FE que é de 95%, porém se avaliado pelo preconizado pela USP, que aceita resultados acima de 90% de pureza radioquímica, o referido lote seria aprovado. Dos 78 lotes produzidos pelo Fastlab<sup>®</sup> apenas um apresentou resultados insatisfatórios, com valores de solventes residuais para etanol acima do especificado (concentração de 1,063%, sendo o limite máximo superior de 0,5%).

No decorrer de todo o processo de síntese foram observados diversos pontos críticos que podem implicar no baixo rendimento de síntese, dentre eles pode-se citar problemas envolvendo o equipamento, o operador, os materiais e reagentes utilizados, o método de operação e o método utilizado para realizar as medições conforme tabela 7.

## **CONCLUSÃO**

Através dos resultados obtidos, podemos concluir que os dois equipamentos se equiparam quanto a rota de síntese, no entanto o Fastlab<sup>®</sup> consegue concluir a síntese em menor tempo, podendo alcançar uma diferença de até 4 minutos no tempo total de síntese em relação ao tempo de síntese realizado pelo Synthera<sup>®</sup>. O Fastlab<sup>®</sup> demonstrou ainda ser um equipamento mais prático, pois o kit de produção já vem pronto, com todos os reagentes e colunas instalados no cassete, enquanto no Synthera<sup>®</sup>, as colunas são submetidas a uma ativação prévia, para só então acoplá-las ao kit IFP<sup>™</sup> junto

com todos os reagentes utilizados durante a síntese, o que demanda mais tempo e mão de obra, estando mais suscetível ao erro humano.

O Fastlab<sup>®</sup> demonstrou ser um equipamento mais robusto, apresentando os melhores resultados para rendimentos em relação ao Synthera<sup>®</sup>, obtendo uma média de rendimentos de 86,7%, contra uma média de 68,7% obtida com os lotes produzidos no Synthera<sup>®</sup>. Esta significativa diferença de rendimentos pode ser atribuída, entre outros fatores, aos métodos de medição da radioatividade adotada por cada equipamento, onde o Curiômetro, adotado pelo Synthera<sup>®</sup> como aparelho de medição, é muito mais preciso e específico que o Geiger-Muller, adotado pelo Fastlab<sup>®</sup>. Os dois são capazes de realizar a medição da radioatividade, no entanto, o Geiger-Muller pode promover um erro de até 20%, devido o fato de superestimar a radiação medida, e com isso um rendimento relativamente alto. O curiômetro pode emitir um erro de 5 a 10%, sendo portanto mais preciso e confiável. Os dois equipamentos são capazes de obter resultados satisfatórios de qualidade para o produto final.

Conclui-se portanto que o Fastlab<sup>®</sup> aparenta ser o melhor sintetizador entre os dois equipamentos em estudo, sendo mais prático, rápido, e eficiente que o Synthera<sup>®</sup>, obtendo os melhores resultados nos parâmetros avaliados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] J. W. Kim, C. V. Dang. *Cancer's Molecular Sweet Tooth and the Warburg Effect*. *Cancer Res* **2006**; 66(18): 8927-30.

[2] L. Pace, E. Nicolai, M. Klain, M. Salvatore. *Diagnostic value of FDG PET/CT imaging*. *The Quarterly Journal Nuclear Medicine Molecular Imaging*. **2009**; 53, 5, pp 503-512.

[3] B. M. Gallagher, A. Ansari, H. Atkins, V. Casella, D. R. Christman, J. S. Fowler, T. Ido, R. R. MacGregor, P. Som, C. N. Wan, A. P. Wolf, D. E. Kuhl, M. Reivich. *Radiopharmaceuticals XXVII: <sup>18</sup>F-Labeled 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose as a radiopharmaceutical for measuring regional myocardial glucose metabolism in*

*vivo: tissue distribution and imaging studies in animals.* Journal of nuclear Medicine. **1977**; 19, 990-997.

[4] J. S. Fowler. *Initial and subsequent approach for synthesis of 18FDG.* SeminNucl Med. **2002**; 1, 32, pp 6-12.

[5] M. J. Adam. *A rapid, stereoselective, high yielding synthesis of 2-deoxy-2-fluoro-D-hexopyranoses: Reaction of glycols with acetyl hypofluorite.* Journal of the Chemical Society, Chemical Communications. **1982**; 730-731.

[6] K. Hamacher, H. Coenen. *Efficient stereospecific synthesis of no-carrier added 2-[18F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic substitution.* Journal Nuclear Medicine. **1986**; 7, 2, pp 235-238.

[7] S. YU. *Review of 18F-FDG synthesis and quality control.* Biomed Imaging Interv. **2006**; 2, 57, pp 1-11.

[8] N. A. Gomzina, D. A. Vasil'ev, R. N. Krasikova. *Optimization of Automated Synthesis of 2-[18F]Fluoro-2-deoxy-D-glucose Involving Base Hydrolysis.* Radiochemistry. **2002**; 44, 4, pp 403-409.

[9] Synthera®: Small dimensions. Huge potential. IBA. <http://www.iba-radiopharmasolutions.com/products-cyclo/synthera>. [18 may 2015]

[10] Fastlab® GE. <http://gehealthcare.com>. [20 may 2015]

[11] BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 17 de 16 de abril de 2010. Dispõe das Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos, Executivo, Brasília, Diário Oficial da União, 16.04.2010.

[12] BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 37 de 6 de Julho de 2009. Trata da admissibilidade das Farmacopéias estrangeiras, Executivo, Brasília, Diário Oficial da União, 06.07.2009.

- [13] P. K. Feltes, D. Milao. *Controle de Qualidade do Radiofármaco Fludesoxiglicose (18F): comparação prática entre os testes requeridos nas Farmacopéias Britânica, Européia e Americana*. Revista da Graduação. **2011**; 4, 2.
- [14] Fludeoxyglucose F18 Injection. The European Pharmacopoeia, 7<sup>o</sup> ed. European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care. Council of Europe, Strasbourg, **2010**.
- [15] Fludeoxyglucose F18 Injection. United States Pharmacopoeia – USP ed. 34, **2011** The National Formulary.
- [16] T. Ido, C. N. Van, V. Casela, J. S. Fowler, A. P. Wolf, M. Reich, D.E. Kohl . *Flabele 2-deoxy- D-glucose análogas, <sup>18</sup>F-labeled 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose, 2-deoxy-2-fluoro-D-mannose and <sup>14</sup>C-2-deoxy-2-fluoro-S-glucose*. Journal of Flabele Compounds and Radiopharmaceuticals. **1978**; 14, pp 171-183.
- [17] J. Q. Cao, G. B. Rodrigues, A. V. Louie, G. S. Zaric. *Systematic review of the cost-effectiveness of positron-emission tomography in staging of non-small-cell lungcancer and management of solitary pulmonary nodules*. Clin Lung Cancer. **2012**; 13(3), pp 161-70.
- [18] R. Sogaard, B. M. Fischer, J. Mortensen. *Preoperative staging of lung cancer with PET/CT: cost-effectiveness evaluation alongside a randomized controlled trial*. Eur J NuclMed Mol Imaging. **2011**; 38(5), pp 802-9.
- [19] P. Som, H. L. Atkins, D. Bandyopadhyay. *A fluorinated glucose analog, 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose (F- 18): nontoxic tracer for rapid tumor detection*. J NucZ Med. **1980**; 21, pp 670- 675.
- [20] L. A. Quental, G. R. Morais, C. Oliveira, A. Paulo, I. Santos. *Hidratos de Carbono Radiofluorados para Imagiologia Nuclear*. Boletim da Sociedade Portuguesa de Letras, Lisboa. **2014**; 132, pp 41- 46.



## Tabelas

**Tabela 1 - Resultados da síntese de  $^{18}\text{F}$ FDG utilizando hidrólise básica e hidrólise ácida [8].**

Número de replicatas	Tipo de Hidrólise	Tempo de Síntese (min)	Rendimento de $^{18}\text{F}$ FDG, % (Final da síntese)
1 (n=25)	Ácida	70 ± 5	30 ± 5
2 (n=5)	Ácida	55 ± 5	36 ± 3
3 (n=10)	Básica	48 ± 5	40 ± 2
4 (n=6)	Básica	38 ± 5	28 ± 5
5 (n=15)	Básica	38 ± 5	55 ± 2
6 (n=40)	Básica	38 ± 5	63 ± 3

**Tabela 2 - Conferência dos reagentes quanto a sua aparência e volume esperado.**

Reagente	Aparência
Acetonitrila anidra	1,5 a 1,7 mL de acetonitrila (utilizar seringa de 3,0 mL). Livre de partículas.
Água para injetáveis	Incolor e livre de partículas.
Cryptand	6 mm de solução, da base do frasco até o menisco. Livre de partículas.
Triflato de manose*	O pó liofilizado deve apresentar coloração branca.

\*a solução de Triflato de manose deve ser reconstituída, transferindo um volume de 1,5 a 1,7 mL de acetonitrila anidra para o frasco de triflato de manose, com auxílio de uma seringa estéril, tendo o cuidado de retirar o volume correspondente de ar (1,5 a 1,7 mL), de forma a equilibrar as pressões no interior do frasco, antes de desconectar a seringa. Em seguida, homogeneizar lentamente por inversão, até que todo conteúdo seja solubilizado.

**Tabela 3- Relação dos testes de controle de qualidade do  $^{18}\text{F}$ FDG, pela Farmacopeia Americana (USP 34) e pela Farmacopeia Europeia, bem como seus respectivos limites de aceitação [13].**

<b>Testes</b>	<b>USP</b>	<b>FE</b>
<b>Aparência</b>	Não consta	Solução Límpida, incolor ou levemente amarelada
<b>Identidade Radionuclídica</b>	Determinação de sua meia-vida. Entre 105 e 115 minutos.	Determinação de sua meia-vida. Entre 105 e 115 minutos.
<b>Pureza Radionuclídica</b>	Espectrômetro de raios gama. Não menos que 99,5% das emissões gama devem corresponder a 0,511 MeV, 1,022 MeV.	<b>A:</b> Espectrômetro de raios gama. Não menos que 99,5% das emissões gama devem corresponder a 0,511 MeV, 1,022 MeV. <b>B:</b> Espectrômetro de raios gama. Determinar a quantidade de $^{18}\text{F}$ e impurezas radionuclídicas com meia vida maior que 2 horas. A radioatividade total devido as impurezas não é maior que 0,1%
<b>Identidade Radioquímica</b>	CCD. O valor de Rf de $^{18}\text{F}$ FDG corresponde ao obtido com a solução padrão de $^{18}\text{F}$ FDG obtido no teste de pureza radioquímica.	CLAE. Examinar o cromatograma obtido no teste A para pureza radioquímica. O pico principal no radiocromatograma obtido com a solução teste de $^{18}\text{F}$ FDG é similar ao Rf do pico obtido com a solução padrão.
<b>Pureza Radioquímica</b>	CCD. O Rf de $\text{FDG-}^{18}\text{F}$ corresponde ao Rf da solução padrão ( ~0,4); a radioatividade de $\text{FDG-}^{18}\text{F}$ não é menor que 90% da radioatividade total.	<b>A:</b> CLAE como descrito para impurezas A. Limites: $^{18}\text{F}$ da forma de $\text{FDG-}^{18}\text{F}$ e $\text{FDM-}^{18}\text{F}$ : mínimo de 95% da radioatividade total. $\text{FDM-}^{18}\text{F}$ : mínimo de 10% da radioatividade total.

		<b>B:</b> CCD. $^{18}\text{F}$ na forma de $\text{FDG-}^{18}\text{F}$ e $\text{FDM-}^{18}\text{F}$ : mínimo 95% da radioatividade total.
<b>pH</b>	Entre 4,5 e 7,5	Entre 4,5 a 8,5
<b>Endotoxinas Bacterianas</b>	Não mais que 175/V unidades de endotoxinas por mL de injeção.	Não mais que 175/V unidades de endotoxinas por mL de injeção.
<b>Pureza Química</b>	Aminopoliéter: CCD. O tamanho e intensidade do ponto obtido na solução teste não excede o obtido com a solução padrão.	Aminopoliéter: Spot Test. A porção central do ponto da solução teste é menos intensa que do que o obtido com a solução padrão.
<b>Solventes Residuais</b>	CG. Não mais que 0,04% de acetonitrila, 0,5% de éter e 0,5% de etanol.	CG. Porém, não especifica quais solventes procurar. Remete ao capítulo geral 5.4.
<b>Esterilidade</b>	Teste padrão de esterilidade USP.	Teste padrão de esterilidade EP.

**Tabela 4 - Avaliação dos valores de rendimentos obtidos entre os dois sintetizadores em estudo.**

	<b>Synthera<sup>®</sup></b>	<b>Fastlab<sup>®</sup></b>
Nº de lotes produzidos (n)	505	78
Média (%)	68,7	86,7
Desvio Padrão (%)	7,9	8,8
DPR (%)	11,5	10,1
Máximo (%)	82,5	98,9
Mínimo (%)	36,5	59,2

**Tabela 5 – Parâmetros do processo de síntese e purificação que diferem entre os dois equipamentos avaliados.**

<b>Parâmetros</b>	<b>Synthera®</b>	<b>Fastlab®</b>
Autorização de transferência da água enriquecida proveniente do cíclotron	Existe um botão no equipamento para autorizar a transferência de água enriquecida do cíclotron para o Synthera®	Não existe o botão para autorizar a transferência de água enriquecida do cíclotron para o Fastlab®, existe apenas interlocks de segurança
Temperatura para evaporação da acetoneitrila	95°C	125°C
Temperatura da reação com o Triflato de manose para realizar a substituição nucleofílica	85°C	125°C
Temperatura para a reação de hidrólise básica	50°C	ambiente
Filtro de Nitrogênio	Não contém	Filtro para entrada de Nitrôgenio
Ativação de colunas	É realizado uma ativação manual prévia das colunas de purificação e QMA antes de montar o kit IFP para iniciar a síntese.	Não é necessária a ativação prévia de colunas de purificação e QMA, já que o próprio equipamento realiza o condicionamento automático de todas as colunas
Etapa de purificação utilizando coluna C18	É a ultima etapa de purificação do <sup>18</sup> FDG	É a primeira etapa de purificação. É vista como uma purificação preliminar.
Adição de Etanol ao	O resíduo de etanol	É realizado a adição de

processo	neste processo é proveniente do residual de ativação da coluna QMA	0,3% de etanol à bolsa de água para injetáveis acoplada ao cassete antes de iniciar a síntese
Método de medição da radioatividade	Curiômetro	Geiger-Muller

**Tabela 6 - Resultados do controle de qualidade de todos os lotes produzidos em ambos equipamentos Avaliados.**

Teste avaliado		Synthera <sup>®</sup>	Fastlab <sup>®</sup>
<b>Aspecto</b>	Farmacopeia	FE	USP
	Resultado	Conforme*	--
<b>Identidade</b>	Farmacopeia	FE	USP
<b>Radionuclídica</b>	Média	109,9	109,9
	Desvio Padrão	1,25	1,84
	Máximo	114,5	113,6
	Mínimo	105,7	106,2
<b>Pureza</b>	Farmacopeia	FE	USP
<b>Radionuclídica</b>	Resultado	<b>A:</b> Conforme*	Conforme*
		<b>B:Média:</b> 0,09%	
		<b>Desvio</b>	
		<b>Padrão:</b> 0,011%	
		<b>Máximo:</b> 0,10%	
	<b>Mínimo:</b> 0,06%		
<b>Identidade</b>	Farmacopeia	FE	USP
<b>Radioquímica</b>	Resultado	Conforme*	Conforme*
<b>Pureza</b>	Farmacopeia	FE	USP
<b>Radioquímica</b>	Média	99,15%	99,28%
	Desvio Padrão	0,42%	0,35%
	Máximo	99,65%	99,98%
	Mínimo	94,28%	98,58%

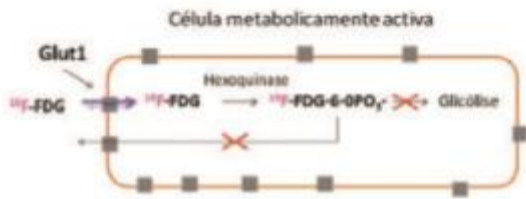
<b>pH</b>	Farmacopeia		FE	USP
	Média		6,0	6,0
	Desvio Padrão		0,3	0,16
	Máximo		7,0	6,4
	Mínimo		5,3	5,7
<b>Pureza Química</b>	Farmacopeia		FE	USP
	Resultado		Conforme*	Conforme*
<b>Sonventes</b>	Etanol	Farmacopeia	USP	USP
<b>Residuais</b>	Média		0,0779%	0,2121%
	Desvio Padrão		0,0005%	0,1105%
	Máximo		0,4232%	1,063%
	Mínimo		0,0008	0,1300%
	Acetonitrila		Farmacopeia	USP
Média		0,0031	0,024%	
Desvio Padrão		0,0001%	0,0006%	
Máximo		0,1585%	0,004%	
Mínimo		0,0000%	0,001%	
<b>Endotoxinas</b>	Farmacopeia		FE	USP
<b>Bacterianas</b>	Resultado		Conforme*	Conforme*
<b>Esterilidade</b>	Farmacopeia		FE	USP
	Resultado		Conforme*	Conforme*

\*Não houve casos de resultados fora da especificação em nenhum dos lotes produzidos para este teste.

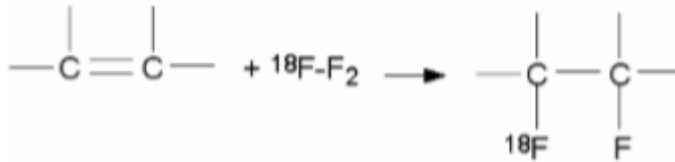
**Tabela 7 – Pontos Críticos do processo de produção do <sup>18</sup>FDG.**

<b>Etapa do processo</b>	<b>Ponto crítico</b>
<b>Equipamento</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Vácuo baixo/instável;</li> <li>- Elevador (<i>heater</i> + perfurador frascos) mal ajustado (Synthera<sup>®</sup>);</li> <li>- Calibração dos sensores de Pressão e Temperatura da Caixa de Síntese;</li> <li>- Calibração dos manômetros de Ar comprimido e Nitrogênio.</li> </ul>
<b>Operador</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ativação das colunas realizada de forma inadequada (Synthera<sup>®</sup>);</li> <li>- Tubo verde de aspiração do FDG no frasco reator mal posicionado (Synthera<sup>®</sup>);</li> <li>- Limpeza das Linhas de Transferência de forma inadequada.</li> </ul>
<b>Material/ Materia-Prima</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Conferências dos frascos de reagentes realizadas de forma inadequada (Synthera<sup>®</sup>);</li> <li>- Conferências no IFP realizadas de forma inadequada (Synthera<sup>®</sup>);</li> <li>- Conferências no cassete realizadas de forma inadequada (Fastlab<sup>®</sup>);</li> <li>- Registros de atividades e horários realizados de forma inadequada;</li> <li>- Excesso de álcool nas rolhas dos reagentes (Synthera<sup>®</sup>);</li> <li>- Conferência das conexões, verificação se o cassete ou IFP foi conectado de forma correta;</li> <li>- Temperatura de armazenamento do Triflato de manose (Synthera<sup>®</sup>);</li> <li>- Qualidade dos Reagentes utilizados.</li> </ul>
<b>Medição da radioatividade</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Calibrador curiômetro ou Geiger-Muller não aferido.</li> </ul>

**Figuras:**



**Figura 1 - Metabolismo celular do  $^{18}\text{F}$ FDG [20].**



**Figura 2 - Reação de fluoração eletrofílica [7].**



**Figura 3 - Síntese do  $^{18}\text{F}$ FDG por fluoração eletrofílica [7].**



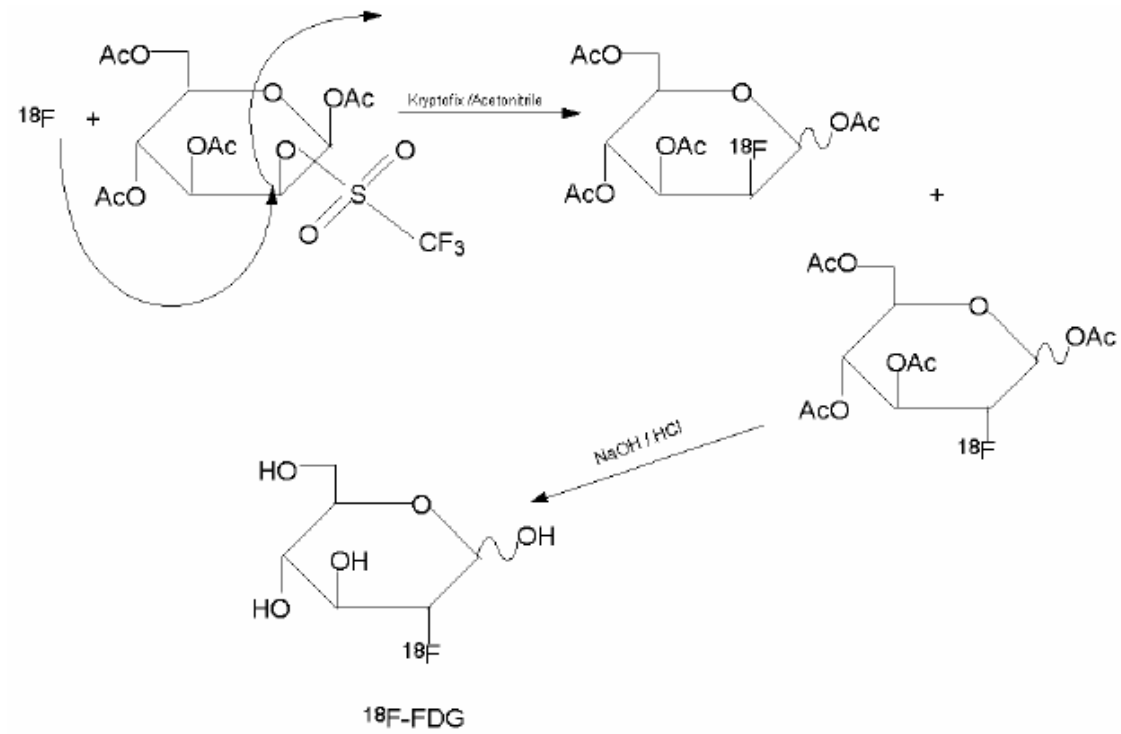


Figura 4 - Síntese de  $^{18}\text{F}$ -FDG, via substituição nucleofílica [7].

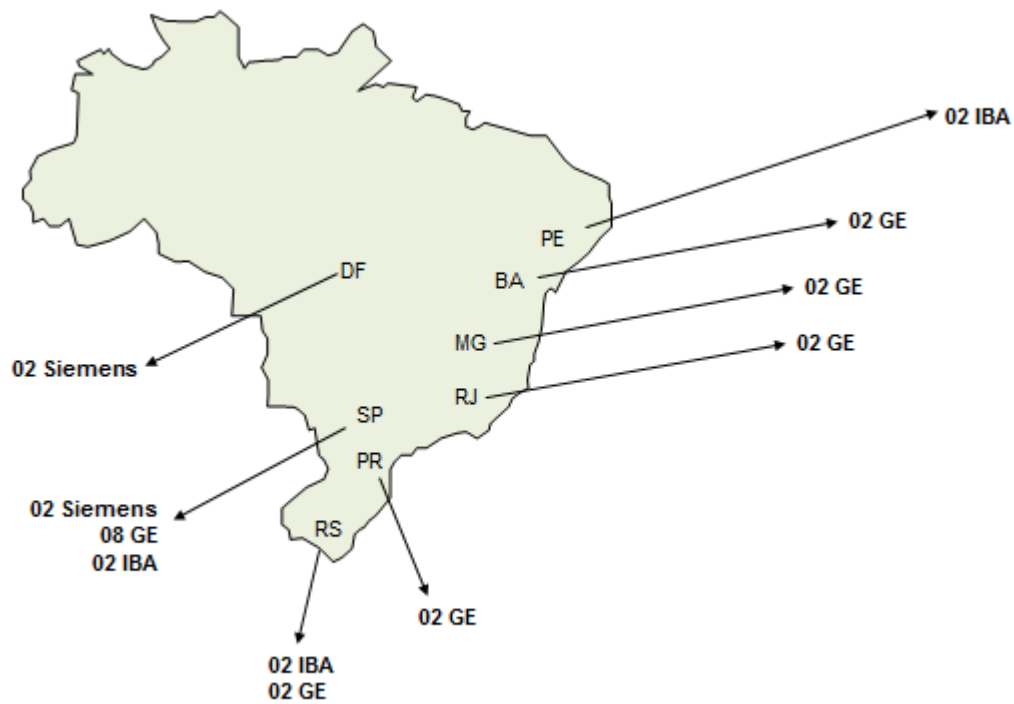


Figura 5 - Distribuição dos Sintetizadores disponíveis no Brasil.



Figura 6 – Sintetizador Synthera®, fabricado pela IBA Molecular, cujas dimensões são de 17x29x28,5 cm.

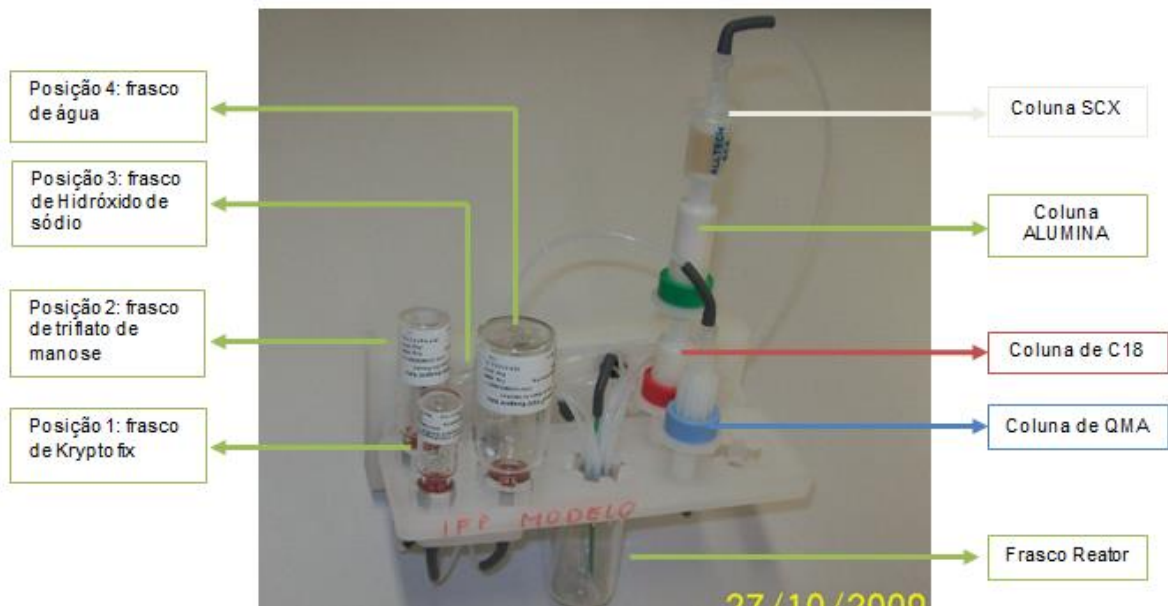


Figura 7 - Kit IFPTM do Sintetizador Synthera®, fabricado pela IBA Molecular, montado com os reagentes e colunas utilizados para a síntese do  $^{18}\text{F}$ FDG.



**Figura 8 - Sintetizador Fastlab®, fabricado pela Ge Healthcare.**



**Figura 9 - O cassete do Sintetizador Fastlab®, para a produção de FDG com todos os seus componentes.**



**Figura 10 - Painel de transferência, responsável por realizar a autorização de transferência do Flúor-18 do ciclotron para o V-vial.**

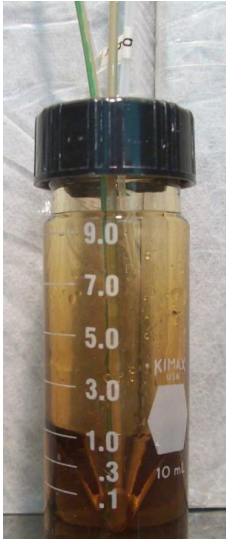


Figura 11 - V-vial, frasco onde a água enriquecida com o Flúor-18 recebida do ciclotron é armazenada.

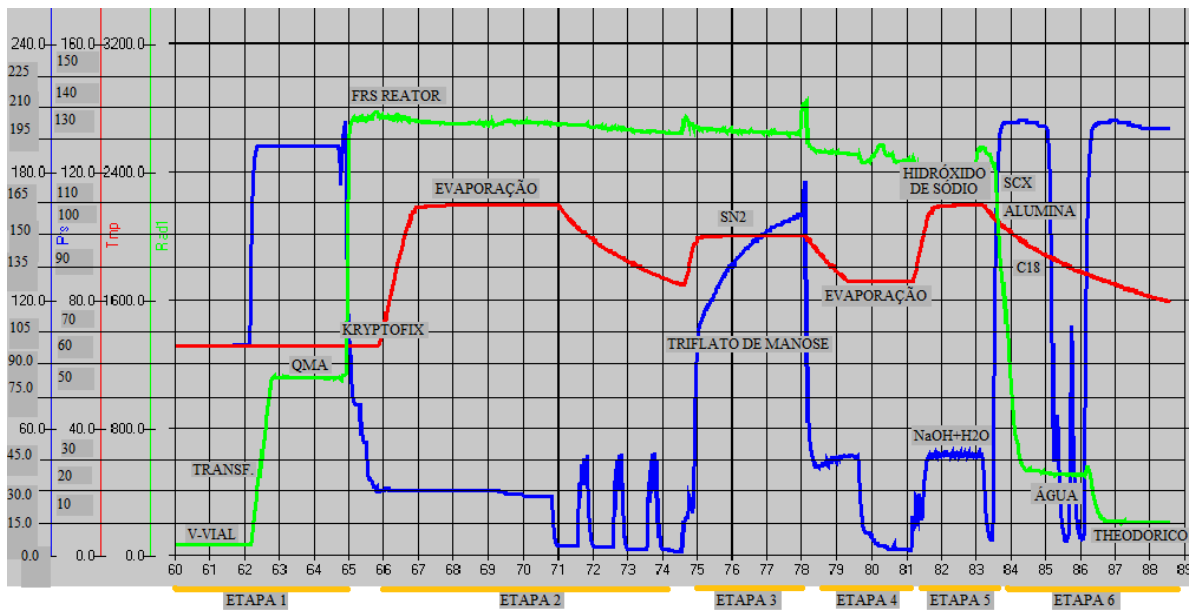


Figura 12 – Gráfico gerado em tempo real para acompanhamento do andamento da síntese pelo Synthera<sup>®</sup>, onde a linha verde, vermelha e azul referem-se aos valores obtidos de radiação, temperatura e pressão, respectivamente.

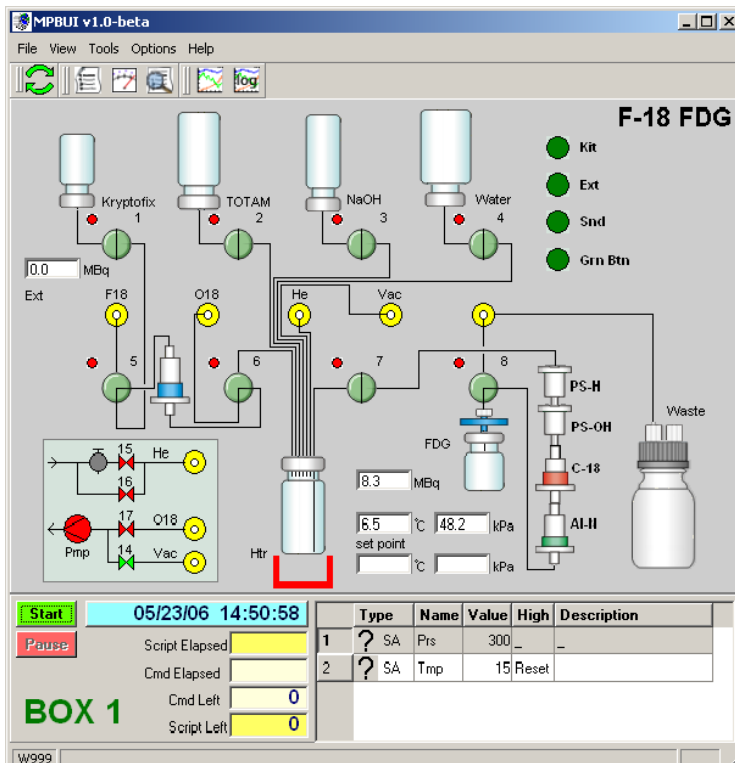


Figura 13 - O software do equipamento Synthera<sup>®</sup> permite uma visualização de cada etapa de síntese em tempo real.

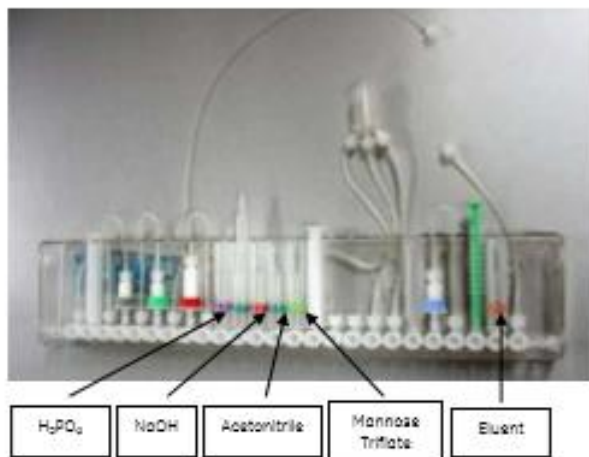


Figura 14 - Reagentes que compoem o cassette.

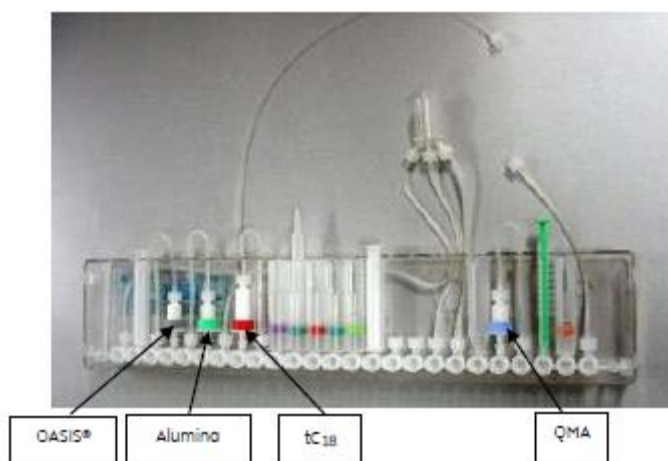


Figura 15 - Colunas que compoem o cassette.

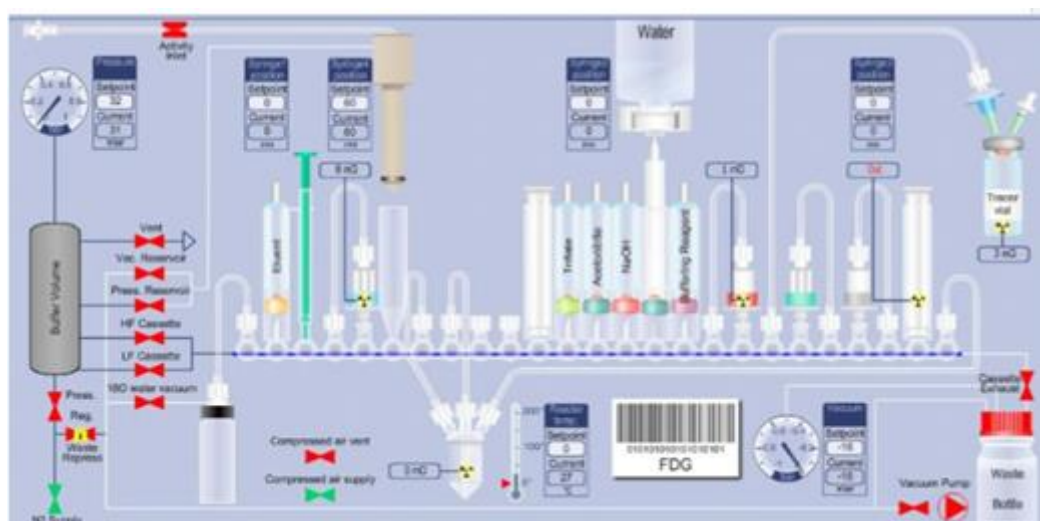
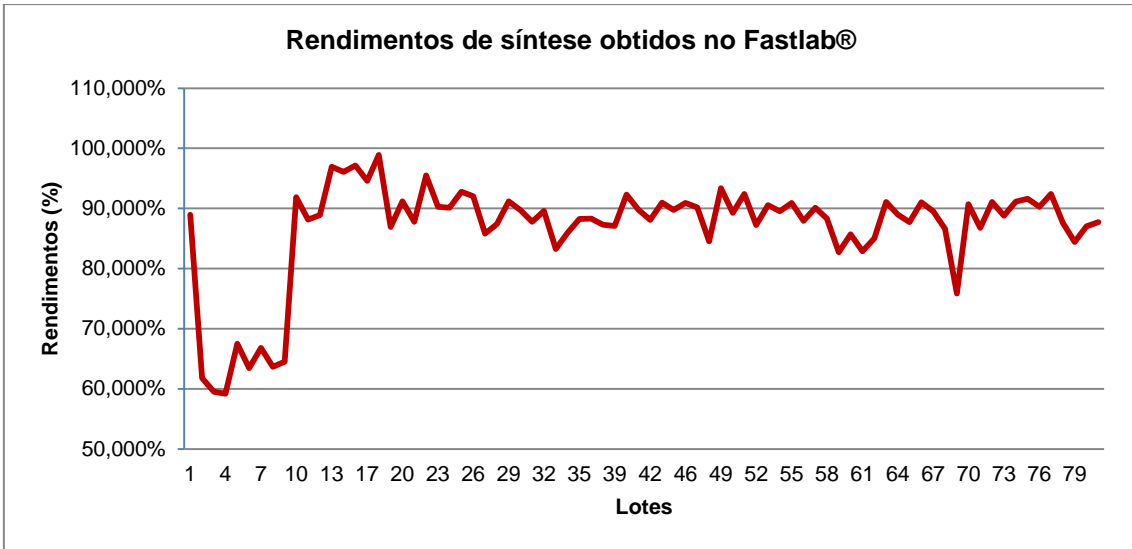
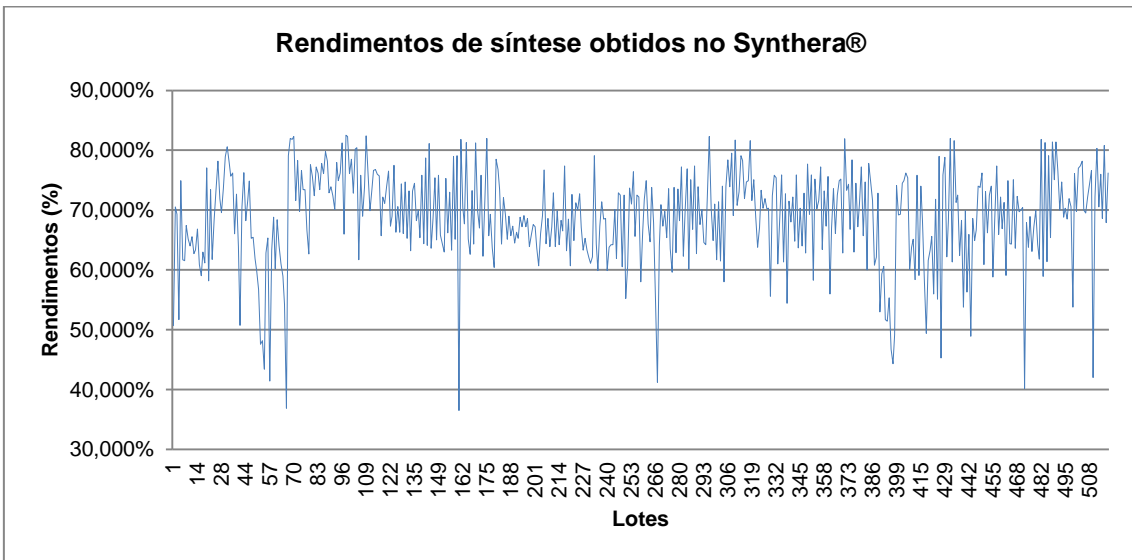


Figura 16 - Software do fastlab®, permite uma visualização em tempo real de cada etapa da síntese.



**Figura 17 - Gráfico demonstrativo para os rendimentos de síntese obtidos no equipamento Fastlab® (GE).**



**Figura 18 - Gráfico demonstrativo para os rendimentos de síntese obtidos no equipamento Synthera® (IBA Molecular).**

## **ANEXO**

### **Normas da Revista *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals***

#### **Intruções para autores:**

Effective with the 2014 volume, this journal will be published in an online-only format. Print subscription and single issue sales are available from Wiley's Print-on-Demand Partner. To order online click through to the ordering portal from the journal's subscribe and renew page on WOL.

For additional tools visit Author Resources - an enhanced suite of online tools for Wiley Online Library journal authors, featuring Article Tracking, E-mail Publication Alerts and Customized Research Tools.

- [Permission Request Form](#)
- [The National Institutes of Health Public Access Initiative](#)

#### **General**

The *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* publishes all aspects of research dealing with labeled compound preparation and applications of these compounds. This includes tracer methods used in medical, pharmacological, biological, biochemical and chemical research in vitro and in vivo.

The *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* devotes particular attention to biomedical research, diagnostic and therapeutic applications of radiopharmaceuticals, covering all stages of development from basic metabolic research and technological development to preclinical and clinical studies based on physically and chemically well characterized molecular structures, coordination compounds and nano-particles.



## **Manuscript Submission**

All papers must be submitted via the online system. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* operates an online submission and peer review system that allows authors to submit articles online and track their progress via a web interface. Please read the remainder of these instructions to authors and then click <http://mc.manuscriptcentral.com/jlcr> to navigate to the Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals online submission site.

Important: Please check whether you already have an account in the system before trying to create a new one. If you have reviewed or authored for the journal in the past year it is likely that you will have created an account.

### **File types**

Preferred formats for the text and tables of your manuscript are .doc, .rtf, .ppt, .xls. LaTeX files may be submitted provided that an .eps or .pdf file is provided in addition to the source files. Figures may be provided in .tiff or .eps format.

### **Initial Submission**

NON-LATEX USERS: Editable source files must be uploaded at this stage. Tables must be on separate pages after the reference list, and not be incorporated into the main text. Figures should be uploaded as separate figure files.

LATEX USERS: For reviewing purposes you should upload a single .pdf that you have generated from your source files. You must use the File Designation "Main Document" from the dropdown box.

### **Revision Submission**

NON-LATEX USERS: Editable source files must be uploaded at this stage. Tables must be on separate pages after the reference list, and not be

incorporated into the main text. Figures should be uploaded as separate figure files.

LATEX USERS: When submitting your revision you must still upload a single .pdf that you have generated from your now revised source files. You must use the File Designation "Main Document" from the dropdown box. In addition you must upload your TeX source files. For all your source files you must use the File Designation "Supplemental Material not for review". Previous versions of uploaded documents must be deleted. If your manuscript is accepted for publication we will use the files you upload to typeset your article within a totally digital workflow.

### **Copyright and Permissions**

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

#### **For authors signing the copyright transfer agreement**

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below:

CTA Terms and Conditions [http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-\\_301.html](http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-_301.html)

#### **For authors choosing OnlineOpen**

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

Creative Commons Attribution License OAA  
Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA  
Creative Commons Attribution Non-Commercial - NoDerivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services [http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-\\_301.html](http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-_301.html) and visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>.

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by certain funders [e.g. The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) or the Austrian Science Fund (FWF)] you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with your Funder requirements.

For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please visit: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

Authors must sign, scan and upload to the online system: Copyright Transfer Agreement with original signature(s) - without this we are unable to accept the submission, and permission grants - if the manuscript contains extracts, including illustrations, from other copyright works (including material from online or intranet sources) it is the author's responsibility to obtain written permission from the owners of the publishing rights to reproduce such extracts using the Wiley Permission Request Form.

The Copyright Transfer Form and the Permissions Form should be uploaded as "Supplementary files not for review" with the online submission of your article.

If you do not have access to a scanner, further instructions will be given to you after acceptance of the manuscript.

To enable the publisher to disseminate the author's work to the fullest extent, the author must sign a Copyright Transfer Agreement, transferring copyright in the article from the author to the publisher, and submit the original signed agreement with the article presented for publication. Submission of a manuscript will be held to imply that it contains original unpublished work and is not being submitted for publication elsewhere at the same time. Submitted material will not be returned to the author, unless specifically requested.

## **Pre-Submission English Editing**

Papers must be in English. Oxford English Dictionary or American spelling is acceptable, provided usage is consistent within the manuscript.

Manuscripts that are written in English that is ambiguous or incomprehensible, in the opinion of the Editor, will be returned to the authors with a request to resubmit once the language issues have been improved. This policy does not imply that all papers must be written in "perfect" English, whatever that may mean. Rather, the criterion will require that the intended meaning of the authors must be clearly understandable, i.e., not obscured by language problems, by referees who have agreed to review the paper.

Authors for whom English is a second language may choose to have their manuscript professionally edited before submission to improve the English. A list of independent suppliers of editing services can be found at

[http://www.blackwellpublishing.com/bauthor/english\\_language.asp](http://www.blackwellpublishing.com/bauthor/english_language.asp);

Japanese authors can also find a list of local English improvement services at <http://www.wiley.co.jp/journals/editcontribute.html>. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

## **Presentation of papers**

Manuscript style: Use a standard font of the 12-point type: Times, Helvetica, or Courier is preferred. It is not necessary to double-line space your manuscript.

Tables must be on separate pages after the reference list, and not be incorporated into the main text. Figures should be uploaded as separate figure files.

During the submission process you must enter:

- 1) the full title;
- 2) the short title of up to 70 characters;

3) names and affiliations of all authors;

4) the full address, including email, telephone and fax of the author who is to check the proofs;

Include the name(s) of any sponsor(s) of the research contained in the paper, along with grant number(s).

Enter an abstract of no more than 250 words for all articles. Please see the guidance below on acceptable abstract writing for JLCR.

**Keywords:** Authors should prepare no more than 10 keywords for their manuscript.

### **Writing Abstracts**

An abstract is a concise summary of the whole paper, not just the conclusions. The abstract should be no more than 250 words and convey the following:

1) An introduction to the work. This should be accessible by scientists in any field and express the necessity of the experiments executed;

2) Some scientific detail regarding the background to the problem;

3) A summary of the main result;

4) The implications of the result;

5) A broader perspective of the results, once again understandable across scientific disciplines;

It is crucial that the abstract convey the importance of the work and be understandable without reference to the rest of the manuscript to a multidisciplinary audience. Abstracts should not contain any citation to other published works.

### **Nomenclature, Abbreviations and Symbols**

Nomenclature, abbreviations and symbols should follow the latest rules of the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). In IUPAC

nomenclature, isotopic substitution is indicated by a prefix consisting of (1) any necessary locant numeral or numerals; (2) the atomic symbol with the mass number as a superscript to the left of the symbol; and (3) a subscript (other than the unity) indicating the number of such atoms. Trivial names should be avoided unless the compound is to be mentioned often in the text, in which case a systematic name should also be given the first time the trivial name is used.

Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals also touches on biology and medicine, and therefore a wide range of nomenclature rules apply.

For biological and biochemical nomenclature authors should conform to the (identical) guidelines published in J Biol Chem 260:16-42 (1985) and Eur J Biochem 138:9-37 (1984).

For biomedical nomenclature authors should conform to rules given in the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals prepared by the International Steering Committee of Medical Editors. Reprints of this document are available from the Editor, Annals of Internal Medicine.

For questions of style, usage and punctuation, refer to The Chicago Manual of Style, which will be the final authority.

### **Reference Style**

References should be cited by superior numbers in square brackets and listed at the end of the paper in the order in which they appear in the text. Authors should cite available published work. If necessary, cite unpublished or personal work in the text but do not include them in the references list. Journal titles should be italicized and abbreviated in accordance with the "Chemical Abstracts Service Source Index" (CASSI; no commas appear in the journal names).

Examples for Journals:

[1] R. K. Harris, A. Nordon, K. D. M. Harris, *Rapid. Commun. Mass Spec.* **2007** ; 21 , 15.

Examples for Books:

[2] K. Schmidt-Rohr, H.W. Spiess, *Multidimensional Solid-State NMR and Polymers*, Academic Press, London, **1994** .

[3] V. Sklenar, in *NMR Applications in Biopolymers* , (Eds: J.W. Finley, S. J. Schmidt, A. S. Serianni), Plenum, New York, **1990** , pp. 63-70.

Examples for Websites:

[4] The Oncology Website. <http://www.mit.co/oncology/> [24 April 1999].

### **Illustrations and ChemDraw Rules**

Copy and paste all illustrations and chemical structures into the text file. In addition upload chemical structures as separate ChemDraw files [or similar chemical drawing packages] and all other figures as separate files in either .tiff or .eps format, with the figure number and the top of the figure indicated. Compound figures e.g. 1a, b, c should be uploaded as one figure. Tints are not acceptable. Lettering must be in a size related to the size given for chemical structures, and consistent within each figure and set of figures. Where a key to symbols is required, please include this in the artwork itself, not in the figure legend. All illustrations must be supplied at the correct resolution:

- Black and white and colour photos - 300 dpi;
- Graphs, drawings, etc - 800 dpi preferred; 600 dpi minimum;
- Combinations of photos and drawings (black and white and colour) - 500 dpi;

Tables should be part of the the main document and should be placed after the references. If the table is created in excel the file should be uploaded separately.

Chemical structures have to be prepared in ChemDraw either 80mm (onecolumn) or 175mm (twocolumn) widths. However, the one-column format should be used whenever possible as this allows greater flexibility in the layout

of the manuscript. Use this ChemDraw Download template or use the following settings:

Drawing settings:

Chain angle: 120°; Bond spacing: 18% of length; Fixed length: 17 pt; Bond width: 2 pt; Line width: 0,75 pt; Margin width: 2 pt; Hash spacing: 2,6 pt; Bold width: 2,6 pt;

Text settings:

Font: Arial; Size: 12 pt;

Preferences:

Units: Points; Tolerances: 5 pixels;

Authors using different structural drawing programs should choose settings consistent with those above. Compound numbers should be bold, but not atom labels or captions.

### **Graphical Table of Contents**

JLCR's table of contents will be presented in graphical form with a brief abstract.

The table of contents entry must include the article title, the authors' names (with the corresponding author indicated by an asterisk), no more than 80 words or 3 sentences of text summarising the key findings presented in the paper and a figure that best represents the scope of the paper. (see the section on abstract writing for more guidance).

Table of contents entries should be submitted to Manuscript Central in one of the generic file formats and uploaded as 'Supplementary material for review' during the initial manuscript submission process.

The image supplied should fit within the dimensions of 50mm x 60mm, and be fully legible at this size.



Examples for arranging the text and figures as well as paper title and authors' names are shown below.

### **Citing EarlyView Articles**

To include the DOI in a citation to an article, simply append it to the reference as in the following example:

R. K. Harris, A. Nordon, K. D. M. Harris, *Rapid. Commun. Mass Spec.* 2007, DOI: 10.1002/rcm.21464.

To link to an article from the author's homepage, take the DOI (digital object identifier) and append it to "<http://dx.doi.org/>" as per following example:

DOI 10.1002/JLCR.20941, becomes <http://dx.doi.org/10.1002/JLCR.20941>.

### **Supporting Information**

Data that are (i) not amenable to presentation in a traditional print format, (ii) of interest primarily to specialists and do not require Journal page space, or (iii) particularly useful to the community in electronic (downloadable) form can be published online as supplementary material hosted within Wiley Online Library.

### **Ethical Treatment of Humans and Animals**

All human and animal studies must be approved by an appropriate ethics committee or review board (depending on local arrangements), and a statement to this effect should be included in the methods section, or the reasons why it was not necessary if this is the case. All clinical investigations must have been conducted according to the principles expressed in the Declaration of Helsinki (<http://www.wma.net>).

### **Disclosure Statement**

*Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* requires that all authors disclose any potential sources of conflict of interest. Any interest or relationship, financial or otherwise, that might be perceived as influencing an author's objectivity is considered a potential source of conflict of interest. These

must be disclosed when directly relevant or directly related to the work that the authors describe in their manuscript. Potential sources of conflict of interest include, but are not limited to, patent or stock ownership, membership of a company board of directors, membership of an advisory board or committee for a company, and consultancy for or receipt of speaker's fees from a company. The existence of a conflict of interest does not preclude publication in this journal. If the authors have no conflict of interest to declare, they must also state this at submission. It is the responsibility of the corresponding author to review this policy with all authors and collectively to list on the cover letter to the Editor-in-Chief, in the manuscript (under the Acknowledgements section), and in the online submission system ALL pertinent commercial and other relationships.

### **Article formats published in JLCR**

*Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* publishes Reviews, Research Articles, Short Notes, Technical Notes, News, Diary and Conference Announcements. Submitted manuscripts should not have been previously published and should not be submitted for publication elsewhere while they are under consideration by Wiley. Receipt of papers will be acknowledged. Submitted material will not be returned to the author, unless specifically requested.

Research Articles must either be of current general interest or of great significance to a more specialized readership. They are peer-reviewed and report details of studies that have not been published previously, except in the form of a preliminary communication (reprint requested). Manuscripts should be between 15 and 20 pages in length (double spaced), and be divided into sections in the following order: Introduction, Experimental, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References.

Short Notes follow the style of Research Articles but should not exceed 4 printed pages.

Technical Notes should not exceed one printed page.

Reviews. The submission of Reviews is encouraged. The Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals accepts different styles of Reviews, such as Comprehensive Reviews, Critical or Personal Reviews, Educational Reviews and Technical Reviews. Prior consultation with the Reviews Editors is advised!

News and Diary. News and Diary on forthcoming meetings, publications, legislation and new products are invited and should be sent to the Editor-in-Chief.

### **Further Information**

For accepted manuscripts the publisher will supply proofs to the submitting author prior to publication. This stage is to be used only to correct errors that may have been introduced during the production process. Prompt return of the corrected proofs, preferably within two days of receipt, will minimise the risk of the paper being held over to a later issue. Free access to the final PDF offprint or your article will be available via Author Services only. Please therefore sign up for Author Services if you would like to access your article PDF offprint and enjoy the many other benefits the service offers. There is no page charge to authors.

Manuscript accepted for publication? If so, check out our suite of tools and services for authors and sign up for:

- Article Tracking;
- E-mail Publication Alerts;
- Personalization Tools;